

Е.В. Анганова¹, Т.В. Фадеева², В.А. Астафьев¹, А.Д. Курносов³, Л.М. Мамонтова¹

ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРЫ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА р. ВИЛЮЙ

¹ Институт эпидемиологии и микробиологии ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

² НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

³ ФГУ Ленское государственное бассейновое управление водных путей и судоходства Республики Саха (Якутия) (Якутск)

Представлены результаты изучения микробиоценоза р. Вилюй, особенностей его структуры, видового разнообразия, определения грамотрицательных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Ключевые слова: поверхностные водоемы, микробиоценоз, видовое разнообразие, доминирующие виды, патогенные и условно-патогенные микроорганизмы

THE CHARACTERISTIC OF STRUCTURE OF MICROBIAL COMMUNITY OF THE RIVER VILUY

E.V. Anganova¹, T.V. Fadeyeva², V.A. Astaf'ev¹, A.D. Kurnosov³, L.M. Mamontova¹

¹ Institute of Epidemiology and Microbiology SC ME ESSC SB RAMN, Irkutsk

² SC RRS ESSC SB RAMN, Irkutsk

³ Lensk's State Management of Waterways and Navigation of Republic Saha (Yakutia), Yakutsk

Results of study of microbial community of the river Viluy, features of its structure, a specific variety, definition of gram-negative pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms are submitted.

Key words: superficial reservoirs, microbial community, the specific variety, dominant kinds, pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms

ВВЕДЕНИЕ

Вода открытых водоемов является естественной средой обитания разнообразных микроорганизмов — палочек, кокков, вибрионов, спирилл, фотосинтезирующих бактерий, грибов, простейших, вирусов, сосуществующих в виде сложных ассоциаций — микробиоценозов. Среди них особое значение имеют грамотрицательные бактерии, в состав которых входят многие патогенные и условно-патогенные виды [2, 4, 7].

Цель работы — изучение особенностей структуры и видового разнообразия микробного сообщества реки Вилюй.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Во время экспедиционной работы в Республике Саха (Якутия) в 2005 г. проведен отбор проб воды в реке Вилюй. Пробы воды отбирали в соответствии с ГОСТ 51592—2000 [3] в 15 точках. Посев выполняли методом мембранной фильтрации с использованием прибора вакуумного фильтрования ПВФ-35. После окончания фильтрации фильтры переносили на чашки Петри с питательными средами (агар Эндо, мясопептонный агар (МПА) и разбавленный МПА) и инкубировали в течение 18—24 часов. Затем осуществляли посев выросших колоний в пробирки со скошенным агаром. Всего выделено 408 штаммов бактерий, в т.ч. грамотрицательных микроорганизмов — 75. Их идентификация проведена в соответствии с общепринятыми стандартными методиками [5, 6,

8, 9]. Выборочно с помощью микробиологического анализатора идентифицировано 43 штамма грамотрицательных бактерий.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что микробиальный планктон реки Вилюй разнообразен и представлен бактериями многих таксономических групп. При этом в микробном сообществе реки преобладали представители грамположительных бактерий — 81,6 % (что сопоставимо с данными в целом по р. Лена, где этот показатель составил 88,6 %). Основное внимание в работе было уделено изучению факультативно-анаэробных и аэробных грамотрицательных бактерий (учитывая их значимость в инфекционной патологии человека). Проведенные исследования показали, что грамотрицательная составляющая микробиоценоза р. Вилюй была представлена бактериями трех семейств: *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* и *Pasteurellaceae*. Подавляющую часть штаммов составили энтеробактерии — 75,0 %, которые широко распространены в окружающей среде (обитают в морской и пресной воде, сточных водах). Довольно высокой оказалась частота встречаемости вибрионов, составивших почти пятую часть от всех штаммов (18,2 %). Обращает на себя внимание факт выделения бактерий семейства *Pasteurellaceae*, хотя они и были самыми малочисленными — 6,8 %.

Полученные данные свидетельствуют об определенных отличиях грамотрицательного состава

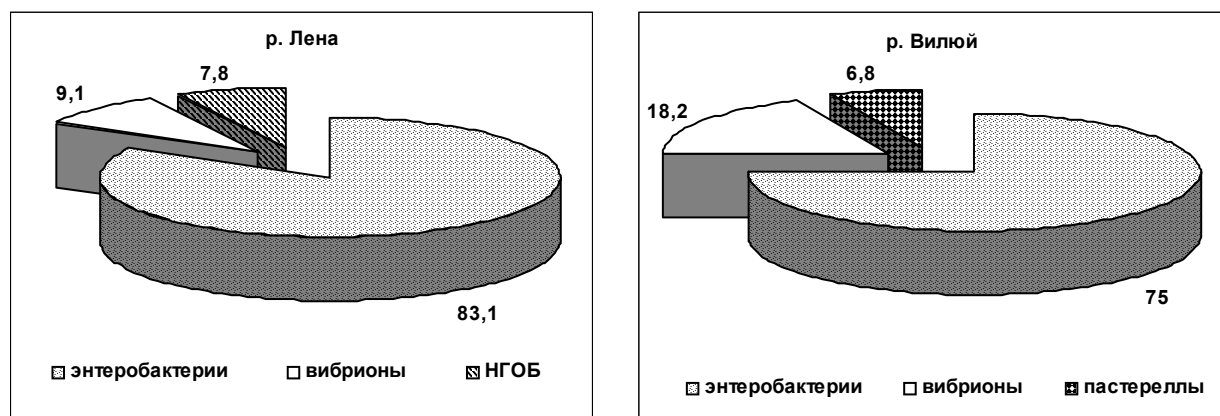


Рис. 1. Сравнительная характеристика микробных ассоциаций рр. Вилюй и Лена (%).

Таблица 1
Таксономическая характеристика грамотрицательного состава микробного сообщества р. Вилюй (%)

Таксономическое положение микроорганизма		%
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>		
<i>Enterobacter</i> , в т.ч.		45,5
	<i>E. cloacae</i>	
	<i>E. agglomerans</i>	
	<i>E. aerogenes</i>	
	<i>E. gergoviae</i>	
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	9,2
<i>Serratia</i> , в т.ч.		9,2
	<i>S. marcescens</i>	
	<i>S. plymuthica</i>	
	<i>S. liquefaciens</i>	
<i>Klebsiella</i> , в т.ч.		6,6
	<i>K. ozaenae</i>	
	<i>K. oxytoca</i>	
	<i>K. pneumoniae</i>	
<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	4,5
Семейство <i>Vibrionaceae</i>		
<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophila</i>	15,8
<i>Vibrio</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	2,4
Семейство <i>Pasteurellaceae</i>		
<i>Pasteurellaceae</i>	<i>P. haemolytica</i>	6,8

микробоценоза изучаемого притока и р. Лены в целом. Так, в р. Лена энтеробактерии составляли 83,1 %, вибрионы встречались значительно реже (9,1 %), пастереллы не были идентифицированы, но выделены неферментирующие грамотрицательные бактерии (7,8 %) (рис. 1).

Среди микробного сообщества р. Вилюй были верифицированы микроорганизмы 8 родов и 15 видов. При этом среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* почти половину составили штаммы *Enterobacter* (45,5 %). Всего было выделено 4 вида энтеробактеров: *E. cloacae*, *E. aerogenes*,

E. agglomerans, *E. gergoviae*. Вторыми по частоте встречаемости после энтеробактеров оказались штаммы *E. coli*, которые составили около 10 %, причем были идентифицированы два фенотипа эшерихий: ферментирующие (LAC +) и неферментирующие (LAC –) лактозу. Частота встречаемости клебсиелл трех видов (*K. ozaenae*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) составила 6,6 %. Также следует отметить выделение серраций трех видов. Кроме того, среди грамотрицательных энтеробактерий верифицированы иерсинии, в частности, *Y. enterocolitica* (табл. 1).

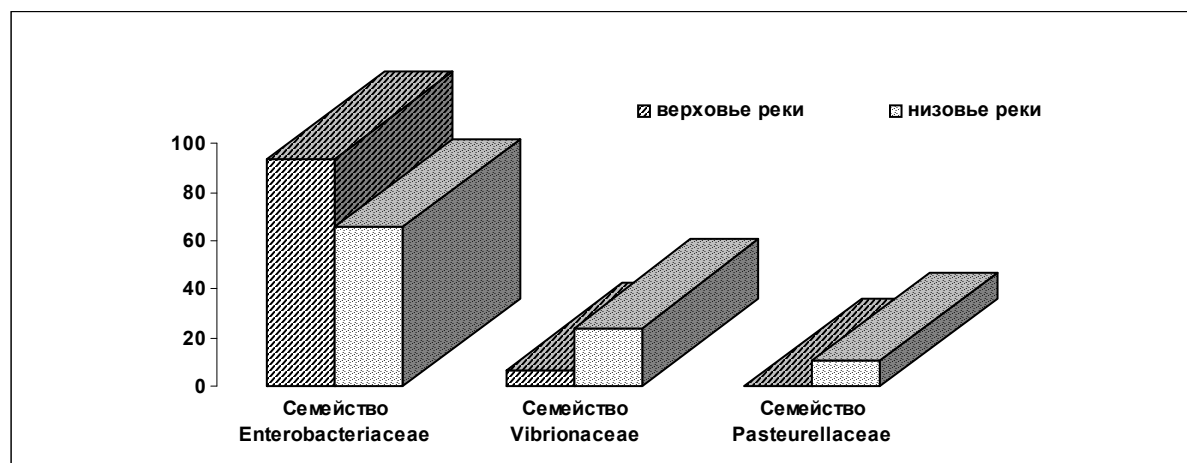


Рис. 2. Сравнительная характеристика микробных сообществ верховья и низовья р. Вилюй (%).

Вторую (помимо энтеробактерий) группу факультативных грамотрицательных бактерий микробиоценоза р. Вилюй составили штаммы семейства *Vibrionaceae*, эволюционно происходящие из водных бактерий. В ходе наших исследований выделены бактерии двух родов: рода *Aeromonas* и рода *Vibrio*. Выделенные аэромонады были представлены бактериями типового вида — *Aeromonas hydrophila*, которые широко распространены в морской и пресной воде, а также в стоках, их часто выделяют из дренажных коллекторов и мелиоративных систем, патогенны для рыб, рептилий и человека. Результаты исследований показали, что в составе грамотрицательных микроорганизмов р. Вилюй аэромонады составили 15,8 %.

Следует отметить, что помимо различий в структурах микробиоценозов р. Вилюй и р. Лены в целом, при сопоставлении верховья и низовья притока установлено, что структура микробного сообщества верховья р. Вилюй отличалась от таковой в низовье. Так, в верховье реки энтеробактерии абсолютно доминировали (93,3 %), а в низовье наряду с представителями семейства *Enterobacteriaceae* значительную часть (около 25 %) составили вибрионы. Кроме того, именно в низовье притока идентифицированы гемофильные бактерии пастереллы — (рис. 2).

При этом если в верховье реки из бактерий семейства *Vibrionaceae* обнаружены только аэромонады, то в низовье помимо аэромонад был выделен и представитель рода *Vibrio* — патогенный нехолерный галофильный вибрион *Vibrio parahaemolyticus*. Его обнаружение в водах Вилюя вызывает особый интерес. Как известно, к роду *Vibrio* относится более 25 видов, из которых, по крайней мере, восемь видов способны вызывать заболевания. Вид *V. parahaemolyticus* представляет наибольший практический интерес из патогенных нехолерных вибрионов. Данный вид эндемичен в Японии, где он является возбудителем большинства острых диарей. Также встречается на побережье Каспийского, Черного и других морей. Несмотря на то, что штаммы *V. parahaemolyticus* — галофильные вибрионы и они являются

обитателями эстуарных и прибрежных морских вод, в последние годы в литературе появились сообщения о выделении *V. parahaemolyticus* в пресноводных водоемах. При этом циркуляция вибрионов, вероятно, осуществляется по следующей схеме: морская вода — рыба — человек — сточная вода — пресная вода [1]. По данным О.К. Поздеева [9], поражения, вызванные *V. parahaemolyticus*, являются этиологическими агентами до 20 % всех диарей в странах Юго-Восточной Азии, Африки и Латинской Америки, в т.ч. у туристов. Пищевые токсикоинфекции, вызванные галофильными вибрионами, зарегистрированы на всех континентах и стали международной проблемой.

Помимо выделения штаммов *V. parahaemolyticus* другой отличительной особенностью низовья реки Вилюй является обнаружение представителей семейства *Pasteurellaceae* (*P. haemolytica*).

Разнообразие окружающей среды обитания нашло отражение и в свойствах выделенных штаммов, которые отличались друг от друга по биохимическим и патогенным признакам. В частности, зачастую микроорганизмы одного и того же вида, выделенные в низовье и в верховье р. Вилюй, обладали разными биохимическими свойствами. Особенно наглядно это проявилось на примере аэромонад. В частности, аэромонады указанных участков реки имели сходные биохимические свойства только по 41,7 % тестов. Так, в верховье реки Вилюй бактерии рода *Aeromonas* были положительными в отношении малоната, адонита, инозита, лизина, сахарозы, сорбита и др., а в низовье, напротив, штаммы оказались либо негативными, либо встречались как негативные, так и позитивные по данным тестам микроорганизмы. Кроме того, в верховье реки аэромонады были отрицательными по отношению к индолу, оргинину, фосфатазе, а в низовье, — положительными (табл. 2).

Определение ДНК активности микроорганизмов показало, что данный фактор был обнаружен у 35,0 % изученных штаммов бактерий. При этом энтеробактерии достоверно реже обладали ДНК по сравнению с вибрионами (21,8 и 87,5 % соответ-

Различия биохимических свойств бактерий рода *Aeromonas* в верховье и низовье р. Вилюй (%)

Биохимический тест	Результат теста	
	Верховье реки	Низовье реки
Цитозин	«+»	«-»
Малонат	«+»	«-»
Лизин	«+»	преимущественно «-»
Адонит	«+»	«-»
Инозит	«+»	«-»
Мальтоза	«+»	«-»
Сахароза	«+»	как «+», так и «-»
Сорбит	«+»	как «+», так и «-»
Галактоза	«+»	преимущественно «-»
Орнитин	«-»	«+»
Индол	«-»	«+»
Фосфотаза	«-»	как «+», так и «-»

ственно). Данный признак был выявлен у эшерихий, энтеробактеров, клебсиелл, серраций, иерсиний и аэромонад. Следует также отметить, что в верховье реки бактерии, обладающие ДНК активностью, встречались несколько чаще, чем в низовье (40,0 % и 32,2 % соответственно). Особенно это касается энтеробактерий. Так, в микробиоценозе верховья реки энтеробактерий с данным фактором было в три раза больше, чем в низовье.

ВЫВОДЫ

1. В микробном сообществе реки Вилюй преобладали представители грамположительных бактерий — 81,6 %. Среди грамотрицательных бактерий верифицированы 8 родов и 15 видов микроорганизмов, при этом доминировали энтеробактерии, преимущественно штаммы *Enterobacter*.

2. Характерной чертой р. Вилюй является высокая частота встречаемости бактерий семейства *Vibrionaceae* (18,2 %), представленного штаммами двух родов: не только рода *Aeromonas* (как в р. Лена), но также рода *Vibrio* (вид *V. parahaemolyticus*).

3. Отличительной особенностью р. Вилюй является обнаружение в его водах гемофильных бактерий пастерелл.

4. В верховье и низовье р. Вилюй выявлены микроорганизмы одного и того же вида, имеющие как разные биохимические свойства (*Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*), так и сходные биопрофили (*Enterobacter agglomerans*, *Yersinia enterocolitica*).

5. У третьей части выделенных бактерий микробного сообщества р. Вилюй обнаружена ДНК активность. В верховье реки частота встречаемости бактерий с ДНК активностью была выше, чем в низовье. При этом энтеробактерии достоверно реже обладали ДНК по сравнению с вибрионами.

Работа выполнена при поддержке международного гранта МНТЦ № 2539 Р.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко А.В. Эколого-эпидемиологические аспекты распространенности вид *Vibrio parahaemolyticus* в пресноводном регионе / А.В. Бойко, Н.П. Погорелова, Т.М. Жигарева // Журн. эпидемиологии, микробиологии, иммунобиологии. — 1994. — № 3. — С. 49 — 51.

2. Бойцов А.Г. Гигиена окружающей и производственной среды / А.Г. Бойцов, О.Н. Ластовка, Г.П. Кашкарова // Гигиена и санитария. — 2003. — № 4. — С. 89 — 92.

3. Вода. Общие требования к отбору проб: Гост 51592 — 2000.

4. Коротяев А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. — СПб.: Специальная литература, 1998. — 591 с.

5. Краткий определитель Берджи / Под ред. Г.А. Заварзина. — М: Мир, 1997. — Т. 1, 2. — 761 с.

6. Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Поздеев. — М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998. — 1200 с.

7. Научное обоснование бактериологических критериев оценки качества воды поверхностных источников централизованного питьевого водоснабжения / Ю.А. Рахманин, А.Е. Недачин, Ю.Г. Талаева, Т.З. Артемова // Итоги и перспективы научных исследований по проблеме экологии человека и гигиены окружающей среды. — М., 2002. — С. 140 — 161.

8. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ МЗ СССР от 22.04. 85. № 535. — 125 с.

9. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / Под ред. акад. РАМН В.И. Покровского. — М.: ГЭОТАР-МЕД. — 2002. — 768 с.